

STANOVENÍ VICINÁLNÍCH DIKETONŮ V PIVU METODOU SPME

TOMÁŠ HORÁK, JIŘÍ ČULÍK, PAVEL ČEJKA, MARIE JURKOVÁ, VLADIMÍR KELLNER,
Pivovarský ústav Praha, VÚPS a. s.

Klíčová slova: *vicinální diketony, SPME, pivo*

1 ÚVOD

Ke vzniku vicinálních diketonů – 2,3-butandionu (diacetyl) a 2,3-pentandionu – dochází při kvašení mladiny a jejich tvorba souvisí se syntézou valinu a isoleucinu. Důležitými meziprodukty této syntézy jsou 2-acetolaktát a 2-aceto-hydroxybutyrát, ze kterých oxidativní dekarboxylací vznikají diacetyl a 2,3-pentandion [1, 2, 3]. Obě sloučeniny mají velký význam ze senzoričského hlediska, protože při překročení prahové koncentrace vnímání vyvolávají nežádoucí změny aromatu piva, které bývá označováno jako máselné, po tvarohu nebo po syrovátce [4].

Velmi rozšířeným a s ohledem na časovou a přístrojovou nenáročnost oblíbeným způsobem stanovení diacetylu je jeho stanovení spektrofotometrickou metodou po destilaci s vodní párou. Oficiální spektrofotometrická metoda EBC je založena na metodě Gjertsen a kol. [5] a jejích dalších modifikacích [6, 7]. V těchto metodách se využívá reakce vicinálních diketonů s derivatizačním činidlem, nejčastěji 1, 2-dimethylamino-benzenem nebo ortho-fenylendiaminem, za vzniku barevných produktů. K zamezení interferencí způsobených přítomností SO_2 , který s vicinálními diketony vytváří adukty, se využívá destilace do prostředí vodného roztoku kyseliny chlorovodíkové [8, 9]. Spektrofotometrická metoda IOB (Institute of Brewing) je založena podobně jako metoda EBC na destilaci s vodní párou, ale vicinální diketony zde reagují s 1-nafto-

lem v přítomnosti kreatinu [10].

Společnou slabinou výše uvedených spektrofotometrických metod je nemožnost stanovit diacetyl a pentandion jednotlivě. Navíc během destilace může docházet k přeměně prekursorů diacetylu na diacetyl nebo mohou vicinální diketony vznikat při zahřátí i jinou cestou, a to jako výsledek komplexu Maillardových reakcí [11, 12]. Tak se může lišit stanovené množství od množství skutečně přítomného volného diacetylu v pivu. Z tohoto důvodu se nyní tato metoda pokládá spíše za orientační.

Výše zmíněné nedostatky se snaží řešit metody chromatografické. Ty především umožňují samostatné stanovení jak diacetylu, tak pentandionu. Tím lze rozlišit, zda diacetyl přítomný v pivu vznikl přirozenou cestou nebo kontaminací laktobacily či pediokoky. Vznikl-li totiž přirozenou cestou, je doprovázen 2,3-pentandionem [13].

Několik metod je založeno na využití vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s UV detekcí [14, 15]. Pro nízké koncentrační úrovně je nutné sledované analyty derivatizovat, např. ortho-fenylendiaminem. K extrakci a čištění se používá technika extrakce na pevné fázi (SPE) s okta-decylovým (C_{18}) sorbentem [16].

Plynová chromatografie ve spojení s headspace technikou se vyznačuje velmi snadnou a rychlou přípravou vzorku. K detekci se používá nejčastěji detektor elektronového záchytu (ECD) [11, 17, 18, 19], byl však použit i plame-

noionizační detektor (FID) [20]. Výhodou ECD ve srovnání s FID je až o dva řády vyšší citlivost a vzhledem k větší selektivitě i menší možnost ovlivnění výsledků přítomností interferujících složek. Nalezením optimálních podmínek klasické headspace techniky a plynověchromatografické analýzy s detektorem elektronového záchytu se na našem pracovišti zabývali Kellner a Čulík [21, 22].

Určitý problém představuje přítomnost SO_2 v pivu. Komplexy vicinálních diketonů s SO_2 snižují tenzi par v headspace prostoru, a to může vést k získání podhodnocených výsledků. Na druhé straně, pokud se koncentrace SO_2 pohybují do 10 mg.l^{-1} piva, negativní ovlivnění výsledků headspace analýzy je zanedbatelné [16]. Navíc k zajištění správnosti naměřených hodnot je doporučeno používání 2,3-hexandionu jako vnitřního standardu [18]. Tato látka totiž také snadno vytváří komplex s SO_2 , a tak kompenzuje vliv SO_2 na diacetyl.

Vhodnou alternativou ke klasické headspace technice, která výrazným způsobem snižuje pořizovací náklady, je mikroextrakce na pevné fázi (SPME). Jde o adsorpčně-desorpční techniku. Její princip spočívá v nanesení malého množství sorbentu na vlákno z křemenného skla. Vlákno se ponoří do vzorku nebo do plynné fáze nad vzorkem. Po ustanovení rovnováhy se vlákno vytáhne ze vzorkované matrice a vloží se do nástřikového prostoru plynového chromatografu. Látky zachycené na sorbentu tepelně desorbují a jsou uná-

šený nosným plynem na kolonu chromatografu, kde dochází k jejich separaci. Při průchodu septy vzorkovnice a chromatografu se vlákno zatáhne do jehly, která jej chrání proti mechanickému poškození. Při vzorkování a chromatografické analýze je vlákno z jehly vysunuto. Koncept této techniky byl navržen v první polovině devadesátých let Januszem Pawliszynem na University of Waterloo (Ontario, Kanada) [23, 24, 25].

Zpočátku se metoda používala pro stanovení látek znečišťujících životní prostředí především ve vodách [26, 27], později nalezla uplatnění i pro analýzy vonných a chutových složek v potravinách [28, 29, 30] a počet aplikací v této oblasti prudce stoupá.

Z oblasti pivovarství byla SPME použita pro stanovení chmelových silic [31], přímo v pivu byly touto metodou stanoveny některé alkoholy, estery a dimethylsulfid [32, 33]. Kombinací plynové chromatografie s hmotnostně selektivní detekcí a SPME metody s vláknem potaženým fází 65 μm Carbowax-divinylbenzen je možné analyzovat diacetyl ve víně za použití izotopicky značeného diacetylu jako vnitřního standardu [34].

Cílem předložené práce bylo vyvinout SPME metodu pro stanovení vicinálních diketonů v pivu využívající plynovou chromatografii s detektorem elektronového záchytu a 2,3-hexandion jako vnitřní standard, získat validační charakteristiky této metody a předložit tak ke klasické headspace technice alternativní metodu stanovení těchto látek.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Použité chemikálie, standardy, SPME

Ethanol p.a., chlorid sodný – Lachema, ČR; ultračistá voda – Milli-RO 5plus, Millipore, USA; dusík v kvalitě ECD, helium 5.0 – MGO, ČR; diacetyl – Fluka, Švýcarsko; 2, 3-pentandion, 2,3-hexandion – Merck, SRN.

Zásobní směsný roztok standardů diacetylu a 2, 3-pentandionu byl připraven navážením a rozpuštěním přibližně 0,25 g každé látky do 25 ml ethanolu. Zásobní roztok vnitřního standardu 2,3-hexandionu byl získán navážením a rozpuštěním asi 0,10 g v 25 ml ethanolu. Pracovní roztoky byly připraveny stonásobným ředěním zásobních roztoků. Jednotlivé kalibrační roztoky byly připravovány v den měření rozpuštěním 5 – 100 μl pracovního roztoku ve 3 ml 5% ethanolu v ultračisté vodě.

Držák SPME vlákna; vlákno 100 μm polydimethylsiloxan (PDMS); vlákno 65 μm Carbowax-divinylbenzen (CW/DVB); 75 μm Carboxen-polydimethylsiloxan – Supelco, USA.

2.2 Příprava vzorku a SPME technika

Všechny pokusy uskutečněné za účelem nalézt nejvhodnější podmínky stanovení, včetně proměření kalibračních

křivek, byly prováděny na modelovém vzorku 5 % obj. roztoku ethanolu ve vodě. Validační parametry byly měřeny na reálných vzorcích pív (4,0–6,0 % obj.) z maloobchodní sítě. Před zahájením analýzy byla piva vychlazena na cca 4 °C.

Před prvním použitím se vlákna kondicionovala v nástřikovém prostoru chromatografu při teplotě 250 °C přes noc. Extrakce na SPME vlákno byla prováděna z headspace prostoru nad 3 ml vzorku obsahujícího interní standard (2,3-hexandion) o koncentraci 40 $\mu\text{g/l}$ ve skleněné vialce o objemu 10 ml, uzavřené teflonovým septem opatřeným hliníkovou fólií. Před vsunutím vlákna byla vialka po dobu 10 s intenzivně protřepána. Ihned po skončení extrakce byly analyty extrahované na SPME vlákne analyzovány plynovou chromatografií.

V práci byl zkoumán vliv různého typu SPME vlákna, přidavek rozdílného množství soli (NaCl), doba extrakce a vliv různé koncentrace ethanolu na stanovení vicinálních diketonů v pivu. I když je známo, že obecně míchání vzorku zlepšuje a zkracuje extrakci, v tomto případě míchání nebylo použito z důvodu odlišné pěnivosti různých pív, která představuje nebezpečí poškození povrchu vlákna přímým stykem s pěnou. Rovněž nebyl testován vliv teploty, neboť záměrem bylo měření obsahu vicinálních diketonů bez jakéhokoli vlivu teplotního namáhání vzorku piva.

2.3 Chromatografické podmínky

Analýza byla prováděna na plynovém chromatografu Carlo Erba 5300 Mega Series a koloně J&W DB 624 o délce 60 m, průměru 0,32 mm a tloušťce filmu 1,8 μm . Tlak nosného plynu (helium) na kolonu byl 100 kPa při 75 °C, teplota detektoru ECD 150 °C, teplota injektoru 200 °C. V nástřikovém prostoru byl použit vstupní liner s vnitřním průměrem 1 mm. Dávkování vzorku na kolonu bylo prováděno v režimu splitless po dobu 0,5 min, pak byl použit režim split 1:10. SPME vlákno bylo ponecháno v injektoru po dobu 5 min, aby došlo k jeho kondicionaci pro další stanovení. K separaci analytů docházelo na koloně při teplotě 75 °C po dobu 10 min, pak byla kolona zahřáta gradientem 5 °C/min na 130 °C a při této teplotě byla ponechána 4 min.

Pro klasickou headspace techniku byl použit dávkovač DANI 3950.

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

3.1 Vliv různého typu vlákna

V tab. 1 je uvedeno porovnání relativní účinnosti extrakce sledovaných analytů na různých typech vlákna. Silně polární Carbowax v divinylbenzenovém polymeru je pro extrakci polárních diketonů účinnější než polydimethylsiloxanové vlákno, neboť platí, že polární analyty jsou mnohem účinněji extrahovány

polárním povrchem. Zcela jednoznačně nejlepší výsledky však poskytuje 75 μm Carboxen-polydimethylsiloxan, který díky velkému počtu malých pórů v Carboxenových částicích vytváří účinné uhlíkové molekulové síto pro extrakci malých molekul. Vysokou citlivost tohoto typu vlákna dokládá i tab. 2, ve které je uvedeno porovnání relativních odezev získaných klasickou headspace metodou (10 ml vzorku ve vialce o objemu 20 ml temperováno na teplotu 40 °C) a extrakcí na tomto SPME vlákne při koncentraci 100 $\mu\text{g/l}$ každé látky a interního standardu 40 $\mu\text{g/l}$.

Carboxenové vlákno je tedy velmi vhodné ke stanovení stopových množství vicinálních diketonů. Avšak při koncentracích přibližně nad 200 $\mu\text{g/l}$ dochází k výraznému zakřivení kalibračních křivek, což je zřejmě důsledkem jednak saturace detektoru elektronového záchytu, jednak kompetitivní sorpce.

Vzhledem k tomu, že koncentrace vicinálních diketonů nad 200 $\mu\text{g/l}$ se v reálných pivech mohou vyskytovat mnohem pravděpodobněji než hodnoty okolo setin či tisícín $\mu\text{g/l}$, bylo pro další pokusy vybráno vlákno typu 65 μm Carbowax-divinylbenzen.

3.2 Vliv vysolovacího efektu

Posunutí fázové rovnováhy ve prospěch plynné fáze lze docílit přidávkou solí anorganických kyselin. Z tohoto důvodu byl testován vliv přidávky chloridu sodného na extrakci vicinálních diketonů, a to při přidávku 0,5 – 2 g soli k 3 ml vzorku. Z obr. 1 je patrné, že s rostoucí koncentrací soli se zvyšuje odezva vicinálních diketonů. Odezva diacetylu při přidávku 1,0, 1,5 a 2,0 g soli je 1,22, 1,43 a 1,45krát větší než odezva s 0,5 g soli. Pro 2,3-pentandion je za stejných podmínek odezva 1,30, 1,39 a 1,44krát vyšší než odezva s přidávkou 0,5 g soli.

Přidání 2 g soli ve srovnání s 1,5 g má zejména pro diacetyl za důsledek jen

Tab. 1 Porovnání relativní účinnosti extrakce vicinálních diketonů na různých typech SPME vlákna

Analyt	PDMS	CW/DVB	CARBOXEN/PDMS
diacetyl	1,0	4,5	150
2,3-pentandion	1,0	4,9	53
2,3-hexandion	1,0	2,8	6,6

Tab. 2 Porovnání relativních odezev vicinálních diketonů získaných klasickou headspace metodou a extrakcí na SPME vlákne pokrytém fází typu 75 μm Carboxen-polydimethylsiloxan

Analyt	Klasická headspace metoda	SPME metoda
diacetyl	1,0	428
2,3-pentandion	1,0	177
2,3-hexandion	1,0	88

Tab. 3 Typ regrese a korelační koeficienty pro kalibraci vicinálních diketonů

Analyt	Typ regrese	Korelační koeficient
diacetyl	lineární	0,986
	polynom 2. ř.	0,999
2,3-pentandion	lineární	0,993
	polynom 2. ř.	0,999

velmi malé zvýšení odezvy a zřejmě při množství okolo 1,5 g soli dochází k saturaci vysolovacího efektu.

Z obr. 1 také vyplývá, že poměr odezvy diacetylu k odezvě vnitřního standardu je v celém rozsahu koncentrací soli relativně stálý. Průměrná hodnota tohoto poměru činí 0,12 a variační koeficient má hodnotu 4,3 %. Poměr odezvy 2,3-pentandionu k odezvě vnitřního standardu vykazuje průměrnou hodnotu 0,86 a variační koeficient nabývá hodnoty 2,8 %. Poměr odezvy sledovaných analytů k odezvě vnitřního standardu je tedy konstantní bez ohledu na význam uplatnění vysolovacího efektu.

3.3 Vliv délky doby extrakce

Závislost odezvy na době extrakce vicinálních diketonů je uvedena na obr. 2.

V rozmezí 0,5–2 min se odezva lineárně zvyšuje. Další prodloužení doby extrakce zvyšuje odezvu jen mírně. Např. relativní zvýšení odezvy při extrakci 20 min vzhledem ke 2 min extrakci nabývá pro diacetyl hodnoty 1,10 a pro 2,3-pentandion hodnoty 1,05.

Důležitým poznatkem je skutečnost, že poměr odezvy diacetylu k odezvě vnitřního standardu a poměr odezvy 2,3-pentandionu k odezvě vnitřního standardu zůstává konstantní během jakékoliv doby extrakce. Průměrná hodnota tohoto poměru pro diacetyl je 0,13 s variačním koeficientem 3,8 %, pro 2,3-pentandion tento poměr vykazuje hodnotu 0,89 a variační koeficient 2,6 %.

3.4 Vliv různé koncentrace ethanolu

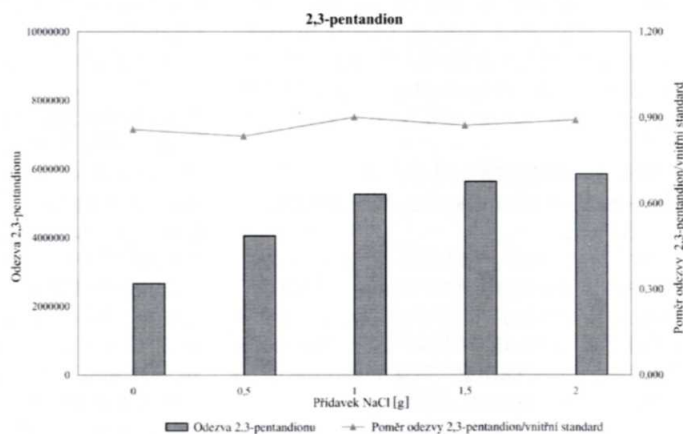
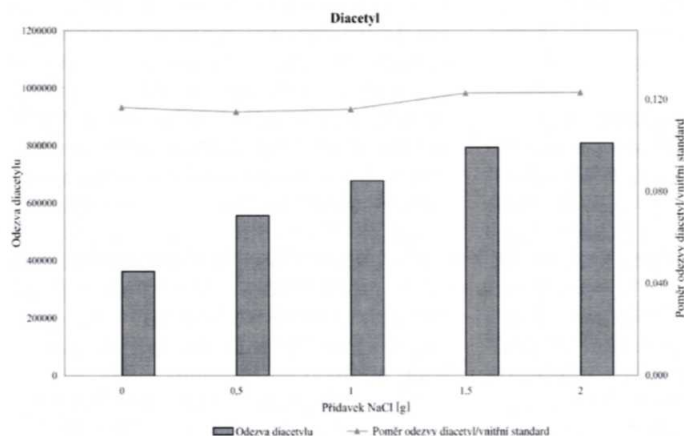
Vliv různé koncentrace ethanolu (4 – 6 % obj.) na velikost odezvy vicinálních diketonů ukazuje obr. 3. Se zvyšující se koncentrací ethanolu absolutní hodnota odezvy vicinálních diketonů klesá, ale poměr odezvy jak diacetylu, tak 2,3-pentandionu k odezvě interního standardu

Tab. 4 Test výtěžnosti přidavků diacetylu do reálných vzorků piva

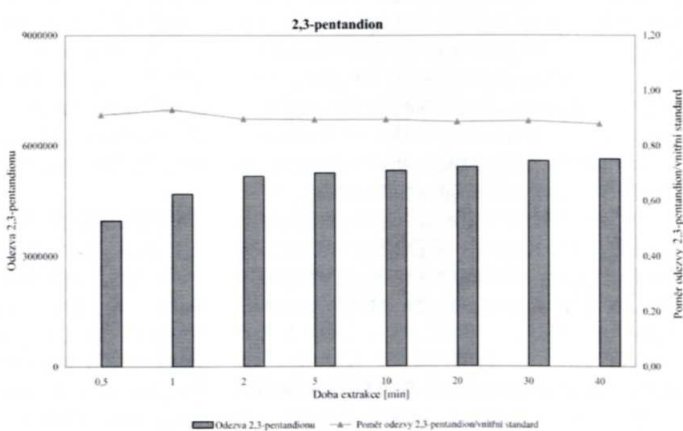
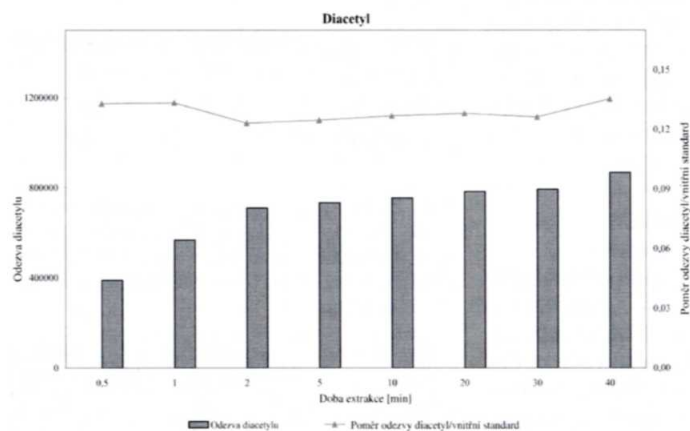
Typ piva	% obj.	Koncentrace diacetylu [µg/l]		Výtěžnost [%]
		původní koncentrace	přídavek	
světlý ležák	5,0	59	100	96
světlý ležák	5,0	51	100	111
světlý ležák	5,1	65	100	104
světlé výčepní	4,5	107	100	94
světlý speciál	5,8	69	100	106
černý speciál	5,1	145	100	108
free	<0,5	64	100	96
průměr				102
variační koeficient				6,6 %
světlý ležák	5,0	59	200	103
světlý ležák	5,0	51	200	107
světlý ležák	5,1	65	200	108
světlé výčepní	4,5	107	200	104
světlý speciál	5,8	69	200	96
černý speciál	5,1	145	200	108
free	<0,5	64	200	95
průměr				103
variační koeficient				5,3 %

zůstává konstantní. Průměrná hodnota tohoto poměru je pro diacetyl 0,12 s variačním koeficientem 3,9 %, pro 2,3-pentandion průměr vykazuje hodnotu 0,91 a variační koeficient 3,0 %.

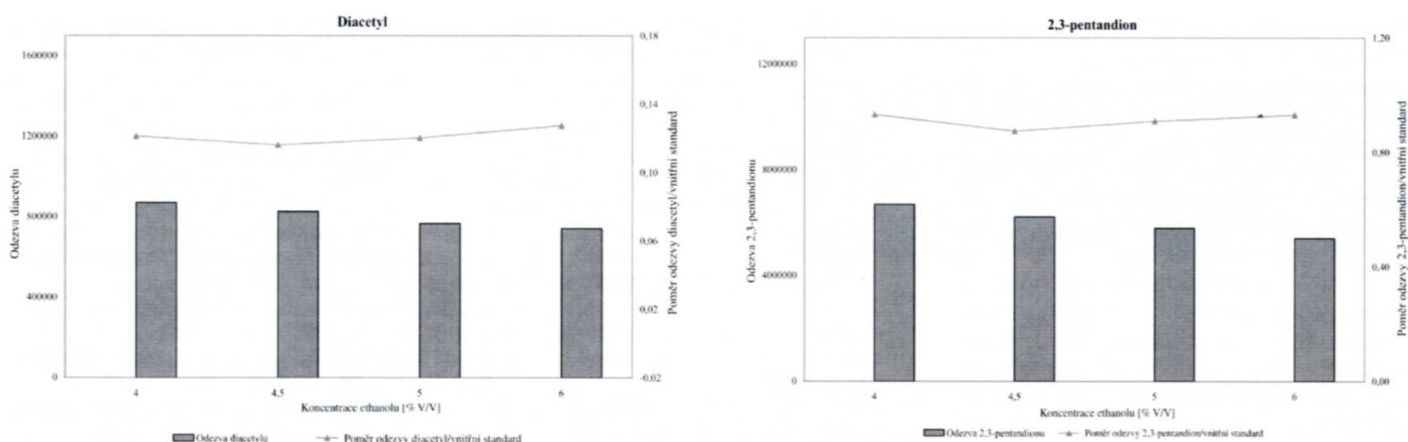
Různý obsah ethanolu v různých vzorcích piva tedy neovlivňuje stanovení obsahu vicinálních diketonů v pivu.



Obr. 1 Vliv přídavku soli (NaCl) na velikost odezvy vicinálních diketonů



Obr. 2 Vliv délky doby extrakce na odezvu vicinálních diketonů



Obr. 3 Vliv různé koncentrace ethanolu na extrakci vicinálních diketonů

4 VALIDACE METODY

4.1 Kalibrační křivky

Pro obě sledované látky byla proměřena 6bodová kalibrační křivka v rozsahu koncentrací 10 až 1000 µg/l pro každou sloučeninu. Typ regrese a korelační koeficienty jsou uvedeny v tab. 3, ze které je patrna lepší shoda pro polynom 2. řádu.

Z dosažených hodnot korelačních koeficientů vyplývá, že touto metodou je možné měřit vicinální diketony v širokém rozsahu koncentrací.

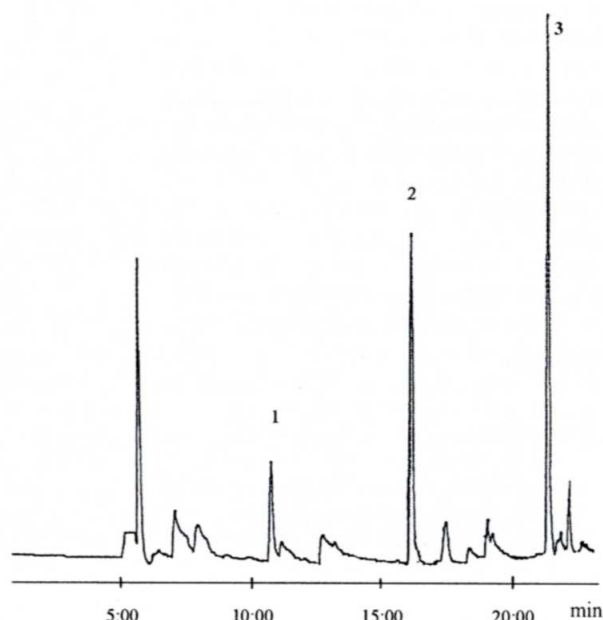
4.2 Parametry metody

Správnost metody byla určena pomocí výtěžnosti. V 7 různých vzorcích piva byla změřena koncentrace vicinálních diketonů. Poté byly tytéž vzorky oboha-

ceny přidavkem vicinálních diketonů o koncentraci 100 resp. 200 µg/l každé látky. Výtěžnost byla určena z porovnání naměřené a očekávané celkové koncentrace vicinálních diketonů (původní obsah plus obohacení) v daných vzorcích piva. Výsledky jsou uvedeny v tab. 4 a 5. Průměrná výtěžnost okolo 100 % s variačním koeficientem menším 8 % jak pro diacetyl, tak pro 2, 3-pentandion na obou koncentračních hladinách (tab. 7) ukazují, že koncentrace vicinálních diketonů je stanovena správně.

Tab. 5 Test výtěžnosti přidavků 2,3-pentandionu do reálných vzorků piva

Typ piva	% obj.	Koncentrace diacetylů [µg/l]		Výtěžnost [%]
		původní koncentrace	přídavek	
světlý ležák	5,0	44	100	104
světlý ležák	5,0	45	100	110
světlý ležák	5,1	37	100	107
světlé výčepní	4,5	40	100	98
světlý speciál	5,8	25	100	112
černý speciál	5,1	168	100	98
free	<0,5	26	100	99
průměr				104
variační koeficient				5,6 %
světlý ležák	5,0	44	200	108
světlý ležák	5,0	45	200	95
světlý ležák	5,1	37	200	100
světlé výčepní	4,5	40	200	102
světlý speciál	5,8	25	200	111
černý speciál	5,1	168	200	92
free	<0,5	26	200	94
průměr				100
variační koeficient				7,2 %



Obr. 4 Chromatografický záznam světlého piva ležáckého typu. 1 – diacetyl, 2 – 2,3-pentandion, 3 – 2,3-hexandion (vnitřní standard)

Opakovatelnost metody byla zjišťována opakovaným měřením (10krát v tentýž den) jednoho a téhož vzorku piva ležáckého typu. Jak vyplývá z tab. 6, metoda má dobrou opakovatelnost jak pro diacetyl tak pro 2,3-pentandion, neboť hodnoty variačních koeficientů jsou pro obě látky < 4, 5 %. Mez opakovatelnosti (r_{95}) je hodnota, o níž lze s 95% pravděpodobností předpokládat, že bude pod ní ležet nebo jí bude rovna absolutní hodnota rozdílu mezi dvěma výsledky zkoušek, které byly získány za podmínek opakovatelnosti [35].

Mez detekce byla odhadnuta jako koncentrace, při které je poměr signálu odpovídající této koncentraci k šumu 7:1.

Výše uvedené charakteristické parametry zvolené headspace SPME metody jsou shrnuty v tab. 7.

Obr. 4 ukazuje chromatografický záznam světlého piva ležáckého typu. Je zde patrna dobrá separace všech analytů nerušená interferujícími látkami.

5 ZÁVĚR

Na základě provedených experimentů byly navrženy tyto podmínky ex-

Tab. 6 Opakovatelnost headspace SPME metody pro stanovení vicinálních diketonů v pivu

	Diacetyl	2,3-pentandion
průměr [µg/l]	175	84
variační koeficient [%]	3,7	4,1
r_{95} [µg/l]	18	10

Tab. 7 Charakteristiky metody headspace SPME pro stanovení vicinálních diketonů v pivu (VK – variační koeficient)

Analyt	Mez detekce [µg/l]	Obohacení 100 µg/l		Obohacení 200 µg/l		Opakovatelnost VK [%]
		průměrná výtěžnost [%]	VK [%]	průměrná výtěžnost [%]	VK [%]	
diacetyl	0,8	102	6,6	103	5,3	3,7
2,3-pentandion	0,2	104	5,6	100	7,2	4,1

trakce vicinálních diketonů: 3 ml vzorku piva s 2,3-hexandionem jakožto vnitřním standardem (výsledná koncentrace 40 µg/l) ve vialce o celkovém objemu 10 ml, vysolení 1,5 g chloridu sodného, protřepání v ruce po dobu 10 s a headspace SPME s použitím vlákna typu 65 µm Carbowax-divinylbenzen po dobu 20 min za laboratorní teploty.

Cenným poznatkem je skutečnost, že ačkoliv odezva vicinálních diketonů závisí na přídavku soli, době extrakce a zejména na obsahu alkoholu, poměr odezvy jednotlivých látek k odezvě vnitřního standardu je konstantní bez ohledu na změnu výše uvedených podmínek. Tak je možné stanovit vicinální diketony s dostatečnou správností a přesností v různých typech piv v širokém rozsahu koncentrací. Vzhledem k účinnému zakonzentrování analytů je možné stanovení volných vicinálních diketonů bez nutnosti temperování vzorku, které může mít za následek přeměnu prekurzorů na vicinální diketony, a tak ovlivnit výsledky stanovení.

Díky rychlé, jednoduché a levné přípravě vzorku k měření lze uvedenou headspace SPME metodu doporučit pro potřeby běžné kontroly obsahu vicinálních diketonů v pivovarství.

Literatura

- [1] SUOMALAINEN, H., RONKAINEN, P.: Nature, London, 220, 1968, s. 792
- [2] RONKAINEN, P. A KOL.: Anal. Biochem., 34, 1970, s. 101
- [3] BENDOŮVÁ, O., KAHLER, M.: Pivovarské kvasinky, Praha, SNTL, 1981
- [4] SHIMWELL, J. L., KIRKPATRICK, W. F.: J. Inst. Brew. 45, 1939, s. 137
- [5] GJERTSEN, P., UNSTRUP, S., TROLLE, B.: Monatsschr. Brauerei 17, 1964, s. 232
- [6] ESSER, K. D., KREMKOW, C.: Monatsschr. Brauerei 23, 1970, s. 11
- [7] ZRCHER, CH., GRUSS, R.: Monatsschr. Brauerei 20, 1977, s. 13
- [8] ALVAREZ, R., HAYA, E. F., DELDADO, M. A., FERRETE, F. J.: J. Inst. Brew. 95, 1989, s. 21
- [9] DELDADO, M. A., HAYA, E. F., ALVAREZ, R.: J. Inst. Brew. 95, 1989, s. 25
- [10] Institute of Brewing, Recommended Methods of Analysis, 1991, Method 8.9.1., s. 229
- [11] MORRISON, N. M., BENDIAK, D. S.: MBAA Quarter. 24, 1987, s. 14
- [12] HODGE, J. E.: Origins of flavors in foods – Nonenzymatic browning reactions. V knize Chemistry and Physiology of Flavors. Eds. Schulz H. W., Day, E. A., Libbey, L. M. Avi Publishing, Westport, CT. 1967, s. 465
- [13] ENGAN, S.: Brauwelt Int., III/1991, s. 217
- [14] BAUMANN, R. A., et al.: Intern. J. Environ. Anal. Chem. 25, 1986, s. 195
- [15] MOREE-TESTA, P., SAINT-JALM, Y.: J. Chromatogr. 217, 1981, s. 197
- [16] VERHAGEN, L., C., DE JONG, R. L., STRATING, J.: Proc. Eur. Brew. Conv., Madrid, 1987, s. 615
- [17] ULBERT, F.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. 74, 1991, s. 630
- [18] BUCKEE, G. K., MUNDY, A. P.: J. Inst. Brew. 100, 1994, s. 247
- [19] HARDWICK, B. C.: J. Am. Soc. Brew. Chem. 52, 1994, s. 106
- [20] LEE, S. M., DRUCKER, D. B.: J. Clinical Microbiol. 2, 1975, s. 162
- [21] KELLNER, V., et al.: Moderní analytické metody a postupy v pivovarství a sladařství (zpráva výzkumného úkolu), VÚPS, Praha, 1996
- [22] ČULÍK, J., HORÁK, T., JURKOVÁ, M., KELLNER, V.: Vliv zvoleného způsobu kalibrace a typu kolony na výsledky získané při stanovení vicinálních diketonů metodou headspace, poster na Mezinárodní pivovarnické a sladovnické konferenci, Bratislava, 1998
- [23] ARTHUR, C. L., PAWLISZYN, J.: Anal. Chem. 62, 1990, s. 2145
- [24] PAWLISZYN, J.: Solid-Phase Microextraction: Theory and Practise, Wiley – VCH, New York, 1997
- [25] ZHANG, Z., PAWLISZYN, J.: Anal. Chem. 65, 1993, s. 1843
- [26] ARTHUR, C. L., et al.: Environ. Sci. Technol. 26, 1992, s. 979
- [27] ARTHUR, C. L., et al.: Environmental Lab., Dec. 1992/Jan. 1993, s. 10
- [28] SONG, J., GARDNER, B. D., HOLLAND, J. F., BEAUDRY, R. M.: J. Agric. Food Chem. 45, 1997, s. 1801
- [29] GARCIA, D. D. C., MAGNAGHI, S., REICHENBACHER, M., DANZER, K.: J. High Resolut. Chromatogr. 9 (19), 1996, s. 257
- [30] NG, L.-K., HUPE, M., HARNOIS, J., MOCCIA, D.: J. Sci. Food Agric. 70, 1996, s. 380
- [31] KROFTA, K., ČEPIČKA, J.: Kvasny Prum. 46, 2000, s. 235
- [32] JELEN, H. H., WLZLY, K., WASOWICZ, E., KAMINSKI, E. J. Agric. Food Chem. 46, 1998, s. 1469
- [33] SCARLATA, C. J., EBELER, S. E.: J. Agric. Food Chem. 47, 1998, s. 1469
- [34] HAYASAKA, Y., BARTOWSKY, E. J.: J. Agric. Food Chem. 47, 1998, s. 612
- [35] SUCHÁNEK, M., et al.: Kvalimetric, 10. Jakost v analytické laboratoři 2000, Eurachem-ČR, Praha 2000, s. 31

Zpracováno na základě posteru uvedeného na 28. kongresu EBC v Budapešti. Autoři děkují členům ČSPS za finanční podporu výzkumného projektu.

Horák, T. – Čulík, J. – Čejka, P. – Jurková, M. – Kellner, V.: Stanovení vicinálních diketonů v pivu metodou SPME. Kvasny Prum. 47, 2001, č. 11–12, s. 316–321.

Nutnost sledování obsahu vicinálních diketonů – 2,3-butanedionu (diacetyl) a 2,3-pentandionu – v pivu vychází ze skutečnosti, že překročení prahové koncentrace vnímání má za následek negativní ovlivnění senzorických vlastností piva označovaných jako máselné aroma. Ke stanovení těchto látek se využívá spektrofotometrická metoda po destilaci s vodní párou, vysokoúčinná kapalinová chromatografie nebo plynová chromatografie ve spojení s headspace technikou.

Tato práce předkládá novou možnost selektivního stanovení diacetyl a pentandionu pomocí plynové chromatografie. Při přípravě vzorku byla klasická statická headspace technika nahrazena metodou mikroextrakce na pevné fázi (SPME). Tato technika je jednoduchá, rychlá a ve srovnání s headspace dávkovačem má výrazně nižší pořizovací náklady. Autoři se zabývali nalezením nejvhodnějšího typu vlákna a podmínek ovlivňujících extrakci – vlivu přídavku soli, doby extrakce, vlivu různé koncentrace ethanolu.

Dále byly proměřeny validační charakteristické metody.

Tato nová SPME metoda je vhodnou alternativou ke konvenční statické headspace technice nejen po ekonomické stránce, ale vzhledem k účinnému zakonzentrování analytů umožňuje stanovení volných vicinálních diketonů bez nutnosti temperování vzorku, která může mít za následek přeměnu prekurzorů na vicinální diketony, a tak ovlivnit výsledky stanovení. Tuto metodu je tedy možné doporučit pro běžné kontrolní analýzy prováděné v pivovarských laboratořích.

Horák, T. – Čulík, J. – Čejka, P. – Jurková, M. – Kellner, V.: Determination of Vicinal Diketones in Beer by Means of SPME Method. Kvasny Prum. 47, 2001, No. 11–12, p. 316–321.

The necessity of monitoring of the content of vicinal diketones – 2,3-butanedione (diacetyl) and 2,3-pentanedione – in beer is based on the fact that the exceeding of threshold concentration of perception results in the negative influence of sensorial properties of beer, called as butter aroma. For the determination of these substances, a spectrophotometry method is used after

distillation with water steam, high-efficient liquid chromatography or gas chromatography in connection with headspace technique.

This work gives a new opportunity of the selective determination of diacetyl and pentanedione by means of gas chromatography. During the preparation of samples, the classic static headspace technique was replaced by solid phase microextraction (SPME). The method is easy to do, quick and in comparison with the headspace dosing device, it has significantly lower cost of acquisition. The authors dealt with finding the most suitable fiber type and conditions effecting the extraction – the effect of salt addition, various alcohol concentrations. Further to this validation characteristics of the method were measured.

The new SPME method is a suitable alternative to the conventional static headspace technique not only from the economic point of view but with respect to efficient concentrating of analytes, it also enables the determination of free vicinal diketones without the necessity of sample temperature treatment that can influence the conversion of precursors into vicinal diketones and so

influence the results of their determination. Thus, this method can be recommended for current control analyses being carried out by brewery laboratories.

Horák, T.–Čulík, J.–Čejka, P.–Jurková, M.–Kellner, V.: Bestimmung der vizinalen Diketone im Bier durch SPME-Methode. Kvasny Prum. 47, 2001, Nr. 11–12, S. 316–321.

Die Notwendigkeit der Verfolgung der vizinalen Diketone – des 2,3-Butandions (Diacetyls) und 2,3-Pentandions – im Bier entspricht der Tatsache, dass die Überschreitung der Schwellen-Konzentration der Wahrnehmung die negative Beeinflussung der sensorischen Eigenschaften des Bieres zur Folge hat, was als Butteraroma bezeichnet wird. Zur Bestimmung der erwähnten Substanzen werden die spektrofotometrische Methode nach der Destillation mit Wasserdampf, hochwirksame Flüssigkeitschromatographie oder Gaschromatographie in Verbindung mit der Headspace-Technik angewandt.

Die präsentierte Mitteilung beschreibt eine neue Möglichkeit der selektiven Bestimmung von Diacetyl und Pentandion mittels Gaschromatographie. Bei der Aufbereitung der Probe wurde die klassische Headspace-Methode durch die Methode der Mikroextraktion auf fester Phase (SPME) ersetzt. Diese Technik ist einfach, schnell und im Vergleich mit dem Headspace-Dosierer weist sie wesentlich niedrigere Beschaffungskosten auf. Die Autoren befassten sich mit der Ermittlung des geeignetsten Fassertyps und der beeinflussenden Extraktionsbedingungen – Einfluss der Salzzugabe, der Extraktionszeit, Einfluss verschiedener Äthanol-Konzentrationen. Im weiteren wurden die Validationscharakteristiken der Methode gemessen.

Die beschriebene neue SPME-Methode stellt eine geeignete Alternative zur konventionellen statischen Headspace-Technik dar, und zwar nicht nur aus ökonomischen Gründen, aber auch mit Hinsicht zu der wirksamen Konzentration der Proben, was die Bestimmung der freien vizinalen Diketone ohne Notwendigkeit der Temperation der Probe ermöglicht, was die Veränderung der Precursoren zu vizinalen Diketonen zu Folge haben und so die Ergebnisse beeinflussen könnte. Diese Methode kann daher für der laufenden Kontrollanalysen in Brauerei-Laboratorien empfohlen werden.

Горак, Т.–Чулик, Й.–Чейка, П.–Юркова, М.–Келлнер, В.: Определение вицинальных дикетонов в пиве методом SPME. Kvasny Prum. 47, 2001, No. 11–12, стр. 316–321.

Необходимость исследования содержания вицинальных дикетонов – 2,3-бутандиона (диацетила) и 2,3-пентандиона – в пиве обосновано фактом, что превышение пороговой концентрации восприятия вызывает негативное влияние на сенсорические свойства пива, называемое привкус масла. Для определения этих веществ применяется спектрофотометрический метод после дисстиляции водяным паром, высокоэффективная жидкостная хроматография, или газовая хроматография в связи с техникой "headspace".

В статье объясняется новая возможность селективного определения диацетила и пентандиона при помощи газовой хроматографии. При подготовке образца была обыкновенная техника "headspace" заменена методом микроэкстрагирования на твердую фазу (SPME). Этот метод является простым, быстросействующим и по сравнению с дозатором "headspace" его цена приобретения не представляет высокие финансовые затраты. Авторы занимались определением самого подходящего типа волокна и условий влияющих на экстрагирование – влиянием добавки соли, продолжительностью экстрагирования, влиянием разной концентрации этанола. Далее промерялись проверочные характеристики метода.

Этот новый метод SPME является подходящей альтернативой обыкновенной статической техники "headspace" не только из-за экономической точки зрения, но из-за действенного законцентрирования аналитов, что позволяет определить свободные вицинальные дикетоны без необходимого темперирования образца. Темперирование образца может вызывать преобразование прекурзоров на вицинальные дикетоны и вследствие того повлиять на результаты определения. Этот метод рекомендуется для проведения контрольных анализов, выполняемых в лабораториях пивзаводов.